

„Intrinsic, extrinsic and implicit parameters“- Bedeutung für die Überlebensfähigkeit von Mikroorganismen

EINLEITUNG

Definition „Mikrobieller Verderb“:

Mikroorganismen verändern durch ihre Vermehrung und Stoffwechsellätigkeit ein Lebensmittel so weit in seiner sinnfälligen Beschaffenheit, daß sein Gebrauchswert erheblich beeinträchtigt oder seine bestimmungsgemäße Verwendung ausgeschlossen ist.

1. Vermehrung von Mikroorganismen (MO) in Lebensmitteln (LM)

Gelangen MO in LM, so durchlaufen sie bei ihrer Vermehrung unterschiedliche Phasen:

1. Phase: Anpassungsphase (Latenzphase, lag-Phase)
2. Phase: Beschleunigungsphase
3. Phase: Exponentielle (logarithmische) Vermehrungsphase
4. Phase: Verzögerungsphase
5. Phase: Stationäre Phase
6. Phase: Absterbephase

Die Intensität und der Verlauf des mikrobiellen Verderbs oder das Überleben und die Vermehrung von Mikroorganismen (MO) in einem Lebensmittel werden nach MOSSEL durch mehrere Faktoren kombiniert beeinflusst und müssen immer im Zusammenhang betrachtet werden.

2. Intrinsic factors

Die „inneren Faktoren“ werden in einem Lebensmittel durch die chemischen, physikalischen und biochemischen Eigenschaften charakterisiert.

2.1 Inhaltsstoffe und Struktur des Lebensmittels

Der mikrobielle Stoffwechsel in Lebensmitteln wird bestimmt durch Proteolyse, Lipolyse, Glycolyse und Oxidation/Reduktion.

In Gewürzen, Zwiebeln, Knoblauch, Kresse, Petersilie aber auch in Milch (Laktenine) und Eiern (Conalbumin, Ovomuroid, Avidin) sind antimikrobiell wirksame Substanzen (z.T. ätherische Öle) enthalten, die aber im Laufe der Lagerung zerstört werden.

Die Struktur eines Lebensmittels ist für den mikrobiellen Verderb von entscheidender Bedeutung. Einige Lebensmittel besitzen sogenannte „biologische Barrieren“ gegen MO: Kalkschalen (Muscheln, Schnecken), Chitinpanzer (Krustentiere), Schalen und Schalenhäute (Eier). Die Oberfläche von Fleisch ist durch Bindegewebshäute und Faszien geschützt.

2.2 a_w -Wert (activity of water, Wasseraktivität)

Der durch osmotische Kräfte oder durch Adsorption an ungelöste Inhaltsstoffe der LM gebundene Teil des Wassers steht den MO nicht zur Verfügung.

Die **Wasseraktivität** ist ein Maß für das ungebundene Wasser eines Lebensmittels, das den MO für die Vermehrung zur Verfügung steht.

Sie wird ausgedrückt durch das Verhältnis des Wasserdampfdruckes des Lebensmittels (p) zum Dampfdruck des destillierten Wassers (p_0)

$$a_w\text{-Wert} = \frac{p}{p_0}$$

Der a_w -Wert für destilliertes Wasser beträgt 1.
Somit ist der a_w -Wert eines Lebensmittels stets kleiner als 1.

Befinden sich die Feuchte der Atmosphäre und die Feuchte eines Lebensmittels in einem geschlossenen System im Gleichgewicht, so entspricht die resultierende relative Luftfeuchtigkeit (r.F. %) dem hundertfachen des a_w -Wertes:

$$r.F.(%) = a_w\text{-Wert} \times 100$$

$$a_w\text{-Wert} = \frac{r.F.(%)}{100}$$

Wenn die rel. Feuchte 95% beträgt, ergibt sich ein a_w -Wert von 0,95.

Folgende Faktoren bestimmen die Wasseraktivität eines Lebensmittels:

1. Der gesamte Wassergehalt
2. Art und Menge der darin gelösten Stoffe, z. B. Elektrolyte, Säuren, Zucker, lösliche Stickstoffsubstanzen
3. Art und Weise, in der das Wasser in dem LM strukturell gebunden ist, z. B. Adsorption an bestimmte Inhaltsbestandteile, etwa Kohlenhydrate oder Eiweiße, feine oder gröbere Verteilung von Mikrotröpfchen in Emulsionen.

Allgemein gilt folgende Risikoabschätzung:

a_w -Wert	> 0,95	leicht verderbliche LM (Brühwurst)
	0,95-0,92	mittelgradig verderbliche LM (Kochwurst)
	< 0,85	kaum verderbliche LM (Rohwurst)

Es gibt Verderbniserreger, die sich noch bei niedrigen a_w -Werten vermehren können. Sie werden als **xerophile** (xeros [griech.] = trocken), osmophile oder osmotolerante MO bezeichnet. In diesen Fällen ist der a_w -Wert z. B. durch Trocknung, Salz oder Zucker abgesenkt worden.

Der Einfluß eines reduzierten a_w -Wertes auf die MO wirkt sich durch eine Hemmung der Vermehrung aus; parallel dazu kann es sogar zu einem Absterben des Erregers kommen. Überlebt der MO, kann er in getrockneter Form sehr lange persistieren.

Tabelle 1 gibt einen Überblick über die minimalen a_w -Werte für potentiell gesundheitlich bedenkliche Mikroorganismen.

Tab. 1: a_w-Grenzwerte für die Vermehrung verschiedener Keimarten (nach ICMSF*, 1980 und 1996)	
Keimarten	a_w-Wert
<i>Campylobacter spp.</i>	0,99
<i>Clostridium botulinum</i> Typ E	0,97
<i>Clostridium perfringens</i>	0,97
<i>Shigella sonnei</i>	0,96
<i>Lactobacillus spp.</i>	0,95
<i>Salmonella spp.</i>	0,95
<i>E. coli</i>	0,95
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	0,94
<i>Vibrio cholerae</i>	0,94
<i>Clostridium botulinum</i> Typ A, B	0,94
<i>Bacillus cereus</i>	0,93
<i>Listeria monocytogenes</i>	0,92
<i>Bacillus cereus</i>	0,90
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,83
Hefen, Schimmelpilze	0,88-0,77
osmophile Hefen und xerophile Schimmelpilze	bis 0,61

* ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods of the International Union of Microbiological Societies)

Tabelle 2 zeigt die a_w -Werte verschiedener LM.

Tab. 2: Beispiele für a_w-Werte verschiedener LM (nach Leistner et al., 1971; Troller und Christian 1978)	
Warenart	a_w-Wert
frisches Fleisch	0,99-0,98
gepökelte, gegarte Stückware	0,98-0,97
Brühwürste, Blutwürste	0,98-0,96
Leberwürste	0,98-0,94
gepökelte Rohfleisch-Erzeugnisse	0,96-0,86
gereifter Hartkäse	0,91-0,80
hart gealzener Fisch	0,80-0,70
Eipulver, Trockenmilch	0,40-0,25

2.3 Kochsalzgehalt

Halophil oder halotolerant (halos [griech.] = Salz): MO, die unempfindlich gegenüber hohen Salzkonzentrationen sind (z.B. Aspergillus und Penicillium-Arten).

2.4 pH-Wert

MO können sich nur innerhalb eines spezifischen pH-Wertbereiches vermehren. Zahlreiche LM weisen einen knapp unter dem Neutralpunkt angesiedelten, also schwach sauren pH-Wert auf, in dem die meisten Verderbniserreger gut gedeien.

Bei der initialen Kontamination beeinflusst der pH-Wert die Zusammensetzung des Keimgehaltes innerhalb des LM. Die Flora in Fischfleisch ist meist proteolytisch, gramnegativ und säureempfindlich. In pflanzlichen Produkten, in Molkereiprodukten, Marinaden und Fleischerzeugnissen mit niedrigem pH- und a_w -Wert herrscht eine vorwiegend saccharolytische, grampositive Flora vor, die säuretolerant ist.

Tabelle 3 zeigt minimale und maximale pH-Wert-Grenzen für die Vermehrung von MO in LM.

Tab. 3: Minimale und maximale pH-Wert-Grenzen für die Vermehrung von Mikroorganismen in Lebensmitteln		
Spezies	minimaler pH-Wert	maximaler pH-Wert
<i>Pseudomonas spp.</i>	5,6	8,0
<i>Clostridium perfringens</i>	5,5	8,5
<i>Bacillus cereus</i>	5,0	8,8
<i>Vibrio cholerae</i>	5,0	9,6
<i>Shigella sonnei</i>	4,9	9,4
<i>Campylobacter spp.</i>	4,9	9,0
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	4,8	11,0
<i>Bacillus subtilis</i>	4,5	8,5
<i>Clostridium botulinum</i>	4,5	8,5
<i>E. coli</i>	4,4	9,0
<i>Proteus vulgaris</i>	4,4	9,2
<i>Listeria monocytogenes</i>	4,4	9,4
<i>Staphylococcus aureus</i>	4,2	9,3
<i>Yersinia enterocolitica</i>	4,2	9,6
<i>Salmonella spp.</i>	4,0	8,2
<i>Lactobacillus spp.</i>	3,4	7,2
<i>Saccharomyces spp.</i>	2,1	9,0
<i>Aspergillus spp.</i>	1,6	9,3

Der pH-Wert ausgesuchter LM tierischen Ursprungs ist in Tabelle 4 dargestellt.

Tab. 4: pH-Werte verschiedener LM tierischen Ursprungs	
Lebensmittel	pH-Bereich
Fleisch (24h abgehangen)	5,3 - 5,8
Rohwurst, normal gereift	5,0 - 5,4
Brühwurst	5,8 - 6,3
Leberwurst	5,9 - 6,4

Für Fleischerzeugnisse hat RÖDEL 1975 auf der Grundlage von a_w - und pH-Wert ein Leitkriterium für die Haltbarkeit von LM erstellt (Tabelle 5).

Haltbarkeit	a_w -Wert		pH-Wert	erforderliche Lagertemperatur
leicht verderblich	> 0,95	und	> 5,2	max. 5°C
verderblich	0,92 - 0,95	oder	5,0 - 5,2	max. 10°C
stabil	≤ 0,95	und	≤ 5,2	Kühlung nicht notwendig
stabil	≤ 0,91	oder	≤ 5,0	Kühlung nicht notwendig

2.5 Redoxpotential (Eh-Wert)

Das Redoxpotential ist ein Meßwert für den Grad der Oxidation bzw. Reduktion durch Sauerstoff in einem LM.

Es charakterisiert die Tendenz des Substrates, Elektronen aufzunehmen (Reduktion) oder abzugeben (Oxidation). Das Redoxpotential wird mit einer Elektrode gemessen und wird als Eh-Wert in Millivolt angegeben. Dementsprechend kann jedem LM ein in mV gemessener positiver oder negativer Eh-Wert zugeordnet werden.

Tabelle 6 zeigt die Eh-Werte ausgesuchter LM.

Lebensmittel	Eh-Wert
Fleisch (nach Schlachtung)	+ 250 mV
Fleisch (nach Lagerung)	- 200 mV
Käse	-20 bis -200 mV
Konserven	-20 bis -150 mV
Pflanzen (Obst+Gemüsesaft)	+300 bis +400 mV

Es wird unterschieden zwischen

1. **obligaten Aerobiern**, die nur bei ausreichendem O_2 -Angebot (positiver Eh-Wert) wachsen können (typische Oberflächenverderber wie Pseudomonaden, Hefen oder Schimmelpilze),
2. **obligaten Anaerobiern**, die nur bei Abwesenheit von O_2 (negativer Eh-Wert) vermehrungsfähig sind (Clostridien),
3. **fakultativ-anaeroben MO**, die für die Vermehrung aerobe Verhältnisse bevorzugen, sich aber auch unter anaeroben Bedingungen anreichern können (Eh-Wert im positiven und im negativen Bereich, z.B. *Enterobacteriaceae*, Staphylokokken) und
4. **mikroaerophilen MO**, die unter verminderter O_2 - und erhöhter CO_2 -Konzentration einen Selektionsvorteil gegenüber anderen MO besitzen (Laktobazillen).

3. Extrinsic factors

3.1 Temperatur

Die lebensmittelhygienisch bedeutsamen MO wachsen zwischen $-15^\circ C$ und $+80^\circ C$, wobei die Extrembereiche bestimmten Schimmelpilzen (im Gefrierbereich) oder wenigen Bazillenarten (im Hitzebereich) vorbehalten bleiben.

Nach den Bereichen optimaler Wachstumstemperaturen teilt man die MO in Psychro- (psychros [griech.] =kalt; Hefen und Schimmelpilze), Meso- (mesos [griech.] =mittel; *Enterobacteriaceae*) und Thermophilie (thermos [griech.] =Wärme, philein [griech.] =lieben; *Bacillus stearothermophilus*) ein. Es gibt viele Übergangsformen, die sich weit ober- oder unterhalb des Optimums vermehren können. Dieses wird durch die angehängte Silbe "troph" (trophein [griech.] =ernähren) gekennzeichnet.

Psychrotrophe sind z. B. Übergangsformen innerhalb der Gruppe der Mesophilen, die eine mittlere optimale Wachstumstemperatur von $20-25^\circ C$ haben, sich aber auch noch bei $0-7^\circ C$ vermehren können (Stamm-spezifisch). Die meisten Verderbniserreger sind mesophil psychrotroph (Kühlschrankflora, v. a. Pseudomonaden).

Tabelle 7 zeigt die Klassifizierung von Mikroorganismen aufgrund ihres Vermehrungsverhaltens bei verschiedenen Temperaturen.

Tab. 7: Klassifizierung von Mikroorganismen aufgrund ihres Vermehrungsverhaltens bei verschiedenen Temperaturen			
Gruppe	Temperatur (°C)		
	Minimum	Optimum	Maximum
Thermophile	40-45	55-75	60-90
Mesophile	5-15	30-45	25-47
Psychrophile	-5 - +5	12-15	15-20
Psychrotrophe	-5 - +5	25-30	30-35

3.2 Atmosphärische Einflüsse

Die atmosphärischen Einflüsse haben eine geringere Bedeutung. Eine niedrige relative Feuchte der Lageratmosphäre kann bei unverpackten Gütern zu oberflächlicher Abtrocknung und damit zu einer Verschiebung der Wasseraktivität führen. Dagegen kann eine zu hohe Luftfeuchte bei Trockenprodukten oder das Verbringen von gekühlter Ware in wärmere Räume (Feuchtigkeitskondensation) eine Oberflächenverschimmelung verursachen.

3.3 Partialdruck von Gasen

Eh-Wert und Gaspartialdruck entscheiden darüber, ob sich bei der Lagerung eines LM eine vorwiegend aerobe oder anaerobe Flora entwickeln wird. Ändern sich die Partialdrücke von Gasen, wird die Zusammensetzung der Mikroflora beeinflusst.

Spezielle Gasmischungen werden als „Schutzgasatmosphäre“ verwendet, wobei die wachstumshemmende Wirkung von CO₂ besonders wichtig ist.

4. Process factors

Aus lebensmittelhygienischer Sicht zielen die Prozeßfaktoren darauf ab, die vorhandene Mikroflora direkt oder indirekt so zu beeinflussen, daß von dem Produkt keine gesundheitlichen Gefahren ausgehen und eine gewisse Haltbarkeit erzielt wird. Während die direkte Einflußnahme auf die Mikroflora zur vollständigen oder teilweisen Abtötung führt, ist das bei den übrigen Prozeßfaktoren nicht der Fall.

Tabelle 8 listet typische Prozeßfaktoren auf, die zur direkten Inaktivierung/Abtötung von MO führen.

Tab. 8: Prozeßfaktoren, die zur direkten Inaktivierung/Abtötung von Mikroorganismen führen		
Faktor	Technologie	Auswirkung auf die Mikroflora
Temperatur	Thermisierung Pasteurisation	Einige vegetative Keime sterben ab. Viele vegetative Keime, insbesondere pathogene sterben ab.
	Sterilisation	Alle vegetativen Keime und Sporen sterben ab.
elektromagnet. Wellenstrahlen, Elektronenstrahlen	Bestrahlung	Vegetative Keime, insbesondere pathogene sterben ab. Überleben von Sporenbildnern und strahlenresistenten Bakterien.

Tabelle 9 stellt die Prozeßfaktoren dar, die zur Verlangsamung/Hemmung der mikrobiellen Vermehrung führen.

Tab. 9: Prozeßfaktoren, die zur Verlangsamung/Hemmung der mikrobiellen Vermehrung führen		
Faktor	Technologie	Beispiele
Temperatur	Kühlen, Gefrieren	LM allgemein
a_w	Wasserentzug: Trocknung Wasserbindung: z.B. Salzen Zuckerung	Ei-, Milchpulver Fische, Häute, Därme Kandierte Früchte
pH	Zugabe von Genußsäuren Bildung von Säuren während Fermentation Oberflächenbehandlung mit organischen Säuren	Mayonnaise, eingel. Gurken Rohwurst, Sauerkraut, Oliven Schlachtierkörper
Struktur	Emulgierung: Wasser/Öl-Emulsion Enzyme: Cellulasen/Pektinasen	Margarine, Mayonnaise pflanzl. LM, Saftgewinnung
Atmosphäre (O ₂)	Vakuum/N ₂ -Verpackung	Aufschnittware
CO ₂	„modified atmosphere“	u. a. Fleisch
SO ₂	Schwefelung	Konservierung von Säften
Mikroorganismen	Starterkultur Schutzkultur alkoholische Gärung	Rohwurst Milcherzeugnisse Wein, Bier
antimikrobielle Stoffe	Pökellung (Nitrit) Konservierungsstoffe antibiotische Substanzen	Fleischerzeugnisse Fleischsalat Nisin: Käse
Äthanol	Zugabe von Alkohol	Eierlikör, „Aufgesetzter“

5. Implicit parameters

Implicit parameters sind die spezifischen Verhaltenseigenschaften der jeweiligen Lebensmittelflora und beschreiben die Wechselwirkungen der verschiedenen Mikroorganismen-Arten untereinander, die sich in ständiger Konkurrenz um Raum und Nährstoffe befinden. Sie bestimmen, wie sich die Flora-Assoziation unter einer gegebenen Bedingung einstellt.

Tabelle 10 stellt eine vereinfachte Klassifizierung mikrobieller Interaktionen dar.

Kategorie	Definition	Art der Interaktion	Beispiel
kompetitiv	schädlich für eine oder beide Arten	Kompetition, Parasitismus	Laktobazillen verdrängen Campylobakter und Salmonellen, z.B. durch Bildung von Bacteriocinen, H ₂ O ₂
neutral	weder schädlich noch nützlich für die eine oder andere Art	Neutralismus, Kommensalismus	<i>Enterobacteriaceae</i> und <i>Pseudomonas spp.</i> in Fleisch
hilfreich	vorteilhaft für beide Arten	Synergismus	Sauerteig; <i>Torulopsis</i> verwertet Glukose, Laktobazillen produziert Glucose aus Maltose